

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Data primer berupa gambaran histologi ginjal dan kadar kreatinin hewan coba setelah pemberian polisakarida krestin (PSK) dari jamur *Coriolus versicolor* selama 62 hari. Data pendukung berupa pengamatan makroskopis ginjal yang dianalisis secara deskriptif.

4.1.1 Hasil pengamatan makroskopis ginjal

Data berikut adalah data pendukung yang berupa pengamatan makroskopis ginjal. Pengamatan makroskopis ginjal meliputi: warna, permukaan, konsistensi dan berat ginjal mencit dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Pengamatan makroskopis ginjal mencit pada 4 perlakuan yang diberi berbagai dosis PSK.

Kelompok	Warna	Permukaan	Konsistensi	Berat ginjal (Gram)
P0 (0 mg/kg BB)	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal	0,18
P1 (1,5 mg/kg BB)	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal	0,16
P2 (3 mg/kg BB)	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal	0,15
P3 (6 mg/kg BB)	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal	0,14

4.1.2 Pengamatan histologi sediaan ginjal

Data primer yang digunakan berupa pengamatan histologi sediaan ginjal. Pengamatan histologi ginjal pada sel tubuli berupa jumlah sel normal, pembengkakan dan nekrosis sel dapat dilihat pada tabel 4.2, 4.3 dan 4.4.

Tabel 4.2 Jumlah sel tubuli yang normal (%) dan hasil analisis uji *Duncan* pada 4 kelompok perlakuan

Replikasi ke-	Sel tubuli normal (%) pada kelompok-			
	P0	P1	P2	P3
1	97,29	93,56	79,42	73,16
2	97,45	79,22	70,08	61,12
3	97,82	78,98	71,68	63,92
4	97,27	80,92	72,57	63,94
5	100	81,37	74,95	61,28
6	98,04	88,56	73,16	65,88
Rerata ± SD	97,98 ^d ±1,03	83,77 ^c ±5,93	73,64 ^b ±3,25	64,88 ^a ±4,43

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan ada beda signifikan dari hasil uji *Duncan*.

Tabel 4.3 Jumlah sel tubuli yang mengalami pembengkakan (%) dan hasil analisis uji *Duncan* pada 4 kelompok perlakuan

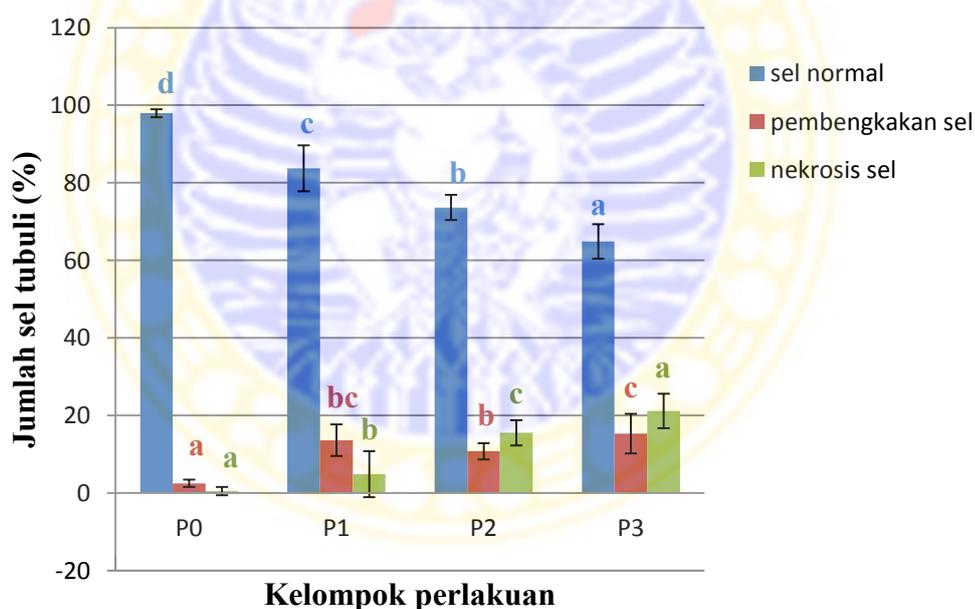
Replikasi ke-	Sel tubuli yang mengalami pembengkakan (%) pada kelompok-			
	P0	P1	P2	P3
1	3,32	17,44	10,69	22,84
2	2,65	17,53	11,41	8,22
3	2,19	12,92	13,67	12,61
4	1,19	13,91	12,20	18,06
5	1,95	6,44	8,78	13,14
6	3,76	13,62	8,07	17,08
Rerata ± SD	2,51 ^a ±0,93	13,64 ^{bc} ±4,04	10,80 ^b ±2,10	15,32 ^c ±5,09

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan ada beda signifikan dari hasil uji *Duncan*.

Tabel 4.4 Jumlah sel tubuli ginjal yang mengalami nekrosis (%) dan hasil analisis uji *Duncan* pada 4 kelompok perlakuan

Replikasi ke-	Sel tubuli yang mengalami nekrosis (%) pada kelompok-			
	P0	P1	P2	P3
1	0	3,30	9,87	15,94
2	0	3,53	18,58	27,74
3	0	6,08	14,66	23,44
4	0,46	4,70	15,22	20,72
5	0	4,96	16,28	20,94
6	2,66	6,85	18,76	18,34
Rerata	1,06±0,52 ^a	1,39±4,90 ^b	3,26±15,56 ^c	4,09±21,18 ^d

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan ada beda signifikan dari hasil uji *Duncan*



Gambar 4.1 Diagram jumlah sel tubuli yang normal, bengkak dan nekrosis. Keterangan: P0: pemberian larutan salin; P1: pemberian PSK dosis 1,5 mg/kg BB; P2: pemberian PSK dosis 3 mg/kg BB; P3: pemberian PSK dosis 1,5 mg/kg BB. Warna yang sama menunjukkan kriteria sel tubuli ginjal yang sama.

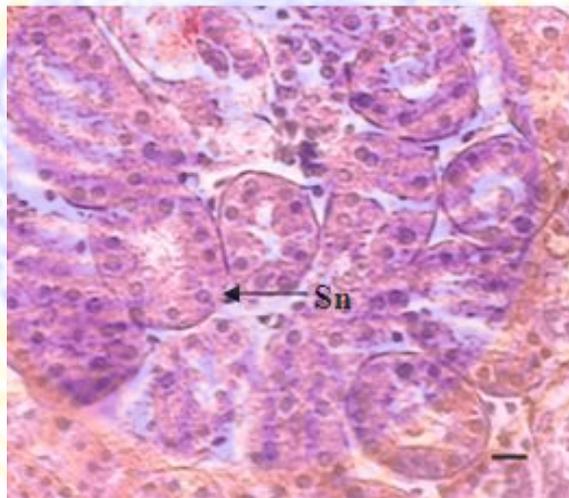
Hasil analisis data dengan menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov* menunjukkan bahwa masing-masing data sel tubuli normal, pembengkakan, nekrosis berdistribusi normal dengan nilai $p=0,613$, $p=0,862$, $p=0,552$ ($p>0,05$). Kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Homogeneity of Variances* yang menunjukkan data bersifat homogen dengan nilai masing-masing $p=0,160$, $p=0,060$, $p=0,119$ ($p>0,05$). Pada hasil analisis data dari ketiga kriteria sel tubuli menggunakan *One Way Anova* menunjukkan $p=0,000$ ($p<0,05$), sehingga hipotesis yang menyatakan tidak ada pengaruh pemberian PSK ekstrak jamur *C. versicolor* pada histologi ginjal mencit (H_0) ditolak. Untuk mengetahui signifikansi antar kelompok perlakuan maka dilakukan uji lanjutan yaitu menggunakan uji *Duncan*.

Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi ginjal yang berupa sel tubuli normal mencit pada kelompok perlakuan kontrol (P0) menunjukkan berbeda signifikan dengan perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Kelompok perlakuan 1 (P1) berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Kelompok perlakuan (P2) berbeda signifikan dengan perlakuan 3 (P3).

Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi ginjal mencit berupa pembengkakan sel tubuli pada kelompok perlakuan kontrol (P0) menunjukkan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Kelompok perlakuan 1 (P1) berbeda tidak signifikan dengan perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 2 (P2). Kelompok perlakuan 2 (P2) berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 3 (P3).

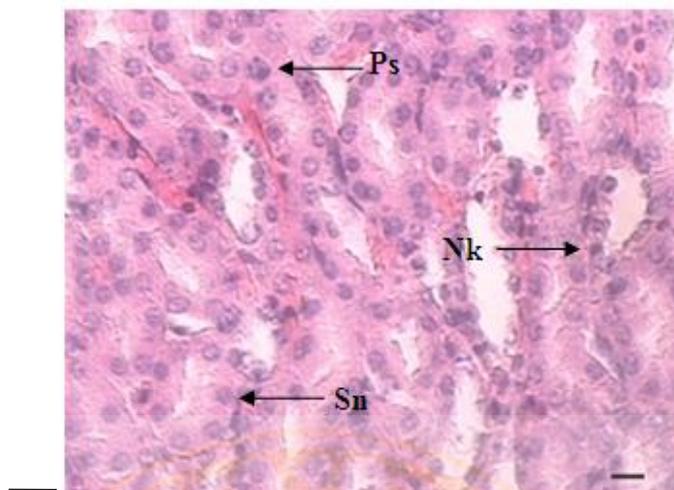
Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada histologi ginjal mencit berupa nekrosis sel tubuli pada kelompok perlakuan kontrol (P0) menunjukkan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Kelompok perlakuan 1 (P1) berbeda signifikan dengan perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Kelompok perlakuan 2 (P2) berbeda signifikan dengan perlakuan 3 (P3).

Gambaran mikroskopik ginjal pada masing-masing kelompok perlakuan sebagai berikut:



Gambar 4.3 Gambaran mikroskopis ginjal mencit pada perlakuan kontrol (P0) pemberian dosis PSK 0 mg/mg BB pada perbesaran 600x dan skala bar 20 μ m. Sn= sel normal.

Pada perlakuan kontrol (P0) tampak sel-sel tubuli ginjal normal.



Gambar 4.4 Gambaran mikroskopis ginjal mencit yang mengalami kerusakan pada sel tubuli ginjal mencit pada perbesaran 600x dan skala bar 20 μ m. Sn= Sel normal, Ps= Pembengkakan sel, Nk= nekrosis.

Pada perlakuan 1,5 mg/kg BB (P1), 3 mg/kg BB (P2) dan 6 mg/kg BB (P3) tampak adanya kerusakan pada sel tubuli ginjal berupa pembengkakan dan nekrosis sel.

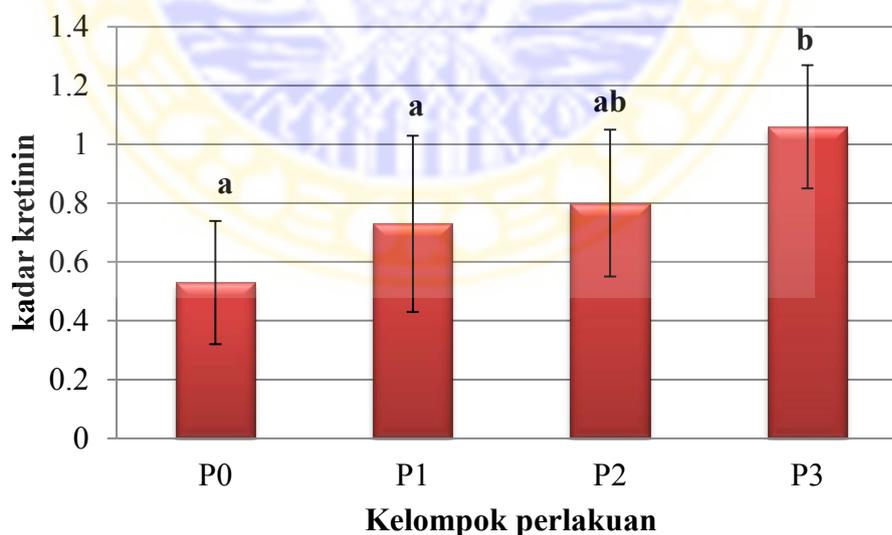
4.1.2 Pengukuran kadar kreatinin

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar kreatinin setelah pemberian polisakarida krestin (PSK) dari jamur *C. versicolor* dapat dilihat pada tabel 4.5. Pada penelitian ini kadar kreatinin serum mencit pada masing-masing kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 4.5 Rerata kadar kreatinin dan hasil analisis uji *Duncan* pada 4 kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	Dosis PSK (mg/kg BB)	Kadar kreatinin (mg/dL) pada ulangan ke-						Rerata
		1	2	3	4	5	6	
P0	0	0,8	0,4	0,8	0,4	0,4	0,4	0,21±0,53 ^a
P1	1,5	1,2	0,4	0,4	0,8	0,8	0,8	0,30±0,73 ^a
P2	3	0,8	0,4	1,2	0,8	0,8	0,8	0,25±0,8 ^{ab}
P3	6	0,8	1,2	1,2	1,2	0,8	1,2	0,21±1,06 ^b

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan ada beda signifikan dari hasil uji *Duncan*.



Gambar 4.5 Grafik rata-rata kadar kreatinin. Keterangan: P0: pemberian larutan saline; P1: pemberian PSK dosis 1,5 mg/kg BB; P2: pemberian PSK dosis 3 mg/kg BB; P3: pemberian PSK dosis 6 mg/kg BB. Huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang signifikan.

Hasil analisis data dengan menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai $p=0,156$ ($p>0,05$). Kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Homogeneity of Variances* yang menunjukkan data bersifat homogen dengan nilai $p=0,770$ ($p>0,05$). Pada hasil analisa data menggunakan *one way Anova* menunjukkan $p<0,05$, sehingga hipotesis yang menyatakan tidak ada pengaruh pemberian PSK ekstrak jamur *C. versicolor* pada kadar kreatinin mencit (H_02) ditolak. Untuk mengetahui signifikansi antar kelompok perlakuan maka dilakukan uji lanjutan yaitu menggunakan uji *Duncan*.

Hasil analisis menggunakan uji *Duncan* pada kadar kreatinin mencit pada kelompok perlakuan kontrol (P0) menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2) tetapi berbeda signifikan dengan perlakuan 3 (P3). Kadar kreatinin pada kelompok perlakuan 3 (P3) berbeda tidak signifikan dengan perlakuan 2 (P2).

4.2 Pembahasan

Di Asia, *Coriolus versicolor* banyak digunakan sebagai suplemen kesehatan yang dijual bebas. Badan otoritas kesehatan di Cina dan Jepang mengungkapkan bahwa ekstrak *C. versicolor* cocok digunakan sebagai adjuvant yang dikombinasikan selama kemoterapi ataupun radioterapi dalam berbagai perlakuan kanker (Ooi dan Liu, 2000).

Salah satu fungsi yang paling penting dari PSK adalah sebagai imunomodulator dan anti kanker (Cheng dan Leung, 2008). Polisakarida krestin

(PSK) digunakan sebagai adjuvan dalam penyembuhan kanker esofagus, kanker nasofaring, kanker kolon, kanker rektum, kanker paru-paru, kanker payudara (Kidd, 2000). Penelitian Hobbs, 1995; Stamets, 2000; dalam Wasser, 2002, injeksi PSK pada bagian tumor dapat menghambat pertumbuhan tumor pada bagian tersebut dan bagian yang lain. Sehingga penginjeksian PSK tersebut dapat membantu dalam mencegah terjadinya metastasis lanjutan. Polisakarida krestin (PSK) dapat digunakan secara oral maupun intravena dalam pengobatan kanker.

Polisakarida krestin (PSK) dari ekstrak *C. versicolor* yang diberikan pada mencit betina selama uji toksisitas akut menunjukkan efek yang cukup toksik dengan nilai LD₅₀ dengan dosis sebesar 231,8 mg/kg BB (Wahyuningsih dan Darmanto, 2010). Sedangkan penelitian tentang toksisitas subkronik polisakarida peptida telah dilakukan oleh Jian *et al.*, (1999) dalam Cheng dan Leung (2008) dengan pemberian dosis (0, 1,5, 3, dan 6 mg/kg BB) menunjukkan tidak ada gejala toksik atau kematian pada hewan coba dan tidak ada ketoksikan yang mempengaruhi perubahan pada darah dan biokimia serum.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas subkronik polisakarida krestin ekstrak *C. versicolor* terhadap histologi ginjal dan kadar kreatinin. Dosis PSK yang diberikan adalah 0 mg/kg BB, 1,5 mg/kg BB, 3 mg/kg BB dan 6 mg/kg BB. Menurut Cui *et al.*, (2007) penelitian *in vivo* yang menggunakan hewan coba dan manusia sangat diperlukan untuk memperoleh dosis optimum polisakarida krestin yang dapat meningkatkan sistem imun tubuh dan tidak menyebabkan efek toksik pada tubuh pasien.

Organ ginjal merupakan organ yang rentan terhadap pengaruh zat kimia. Kerentanan itu didasarkan pada posisi dan sirkulasi cairan tubuh. Hal ini dikarenakan fungsi ekskresinya yang berhubungan erat dengan darah dan zat yang ada di dalamnya (Koeman, 1987). Ginjal merupakan organ yang beratnya kurang dari 1 % berat badan meskipun demikian menerima sekitar 20% darah yang berasal dari jantung. Fungsi glomerulus sebagai penyaring dan tubulus sebagai tempat mengumpulkan bahan buangan dan kelebihan air (Lu, 1995).

Menurut Schnellmann (2001) dalam Manggarwati *et al.*, (2010) tubulus merupakan bagian ginjal yang paling banyak dan paling mudah mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksik. Hal ini dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan-bahan toksik pada segmen ini dan karakter tubulus yang memiliki epitel yang lemah dan mudah bocor.

Pada kelompok perlakuan kontrol (P0) memperlihatkan gambaran tubulus ginjal dengan sel normal, pembengkakan sel dan nekrosis. Jumlah sel normal pada kelompok ini lebih banyak yaitu 97,98% dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberi PSK. Sedangkan jumlah sel yang mengalami pembengkakan 2,51 % dan nekrosis 0,52%. Pembengkakan sel dapat dikarenakan adanya gangguan permeabilitas dalam membran sel tubuli sehingga sel mengalami pembengkakan tapi kerusakan yang berupa pembengkakan sel bersifat reversibel. Adanya kerusakan pada kelompok kontrol dapat disebabkan oleh faktor eksternal yaitu lingkungan sekitar kandang. Adanya sel tubuli yang mengalami nekrosis, hal ini termasuk dalam kategori yang wajar karena setiap sel akan mengalami kematian sel.

Pada kelompok P1 dengan pemberian PSK dosis 1,5 mg/kg BB menunjukkan adanya sel tubuli normal, pembengkakan sel dan nekrosis. Jumlah sel tubuli normal pada kelompok ini yaitu 83,77%. Jumlah sel tubuli yang mengalami pembengkakan yaitu 13,64%. Hal ini dapat disebabkan pada dosis ini mulai adanya kerusakan dalam sel epitel tubulus menurut Underwood (2000) yang ditandai dengan sitoplasma sel mengandung air dan bengkak keruh (*cloudy swelling*). Menurut Price dan Lorraine (2006), apapun yang mengganggu metabolisme energi atau sedikit saja mencederai membran sel dapat menyebabkan sel tidak mampu memompa keluar ion natrium dalam jumlah yang cukup. Peningkatan konsentrasi natrium di dalam sel menyebabkan masuknya air ke dalam sel melalui proses osmosis alami. Bila air tertimbun di dalam sitoplasma, organel sitoplasma menyerap air ini, menyebabkan pembengkakan mitokondria, pembesaran retikulum endoplasma dan sebagainya. Tetapi pembengkakan sel ini merupakan pembengkakan yang ringan dan reversibel. Sedangkan jumlah sel tubuli yang mengalami nekrosis adalah 4,90% dan ini menunjukkan berbeda signifikan dengan kelompok yang lain. Jumlah nekrosis pada kelompok ini masih dalam kisaran yang tidak mempengaruhi fungsi ginjal dalam mengeliminasi sisa metabolisme tubuh yaitu kreatinin.

Pada kelompok P2 dengan pemberian PSK dosis 3 mg/kg BB menunjukkan adanya sel tubuli normal, pembengkakan sel dan nekrosis. Jumlah sel tubuli normal pada kelompok ini berbeda signifikan dengan kelompok P0, P1 dan P3. Sel tubuli yang mengalami pembengkakan sel menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan P1 dan berbeda signifikan dengan kelompok P0 dan P3.

Penyebab adanya pembengkakan sel pada kelompok ini sama dengan yang terjadi pada kelompok P1. Degenerasi yang terjadi merupakan degenerasi yang ringan dan reversibel. Bila paparan zat nefrotoksik terjadi cukup hebat dan berlangsung lama pada organ ginjal maka sel tubuli ginjal tidak lagi dapat melangsungkan metabolisme, maka akan terjadi nekrosis.

Nekrosis sebagai bentuk lanjutan dari degenerasi. Nekrosis pada sel-sel epitel tubuli dapat terjadi karena adanya racun atau toksin, virus, dan kekurangan oksigen (Underwood 2000). Jumlah sel tubuli yang mengalami nekrosis pada kelompok P2 yang pada uji *Duncan* menunjukkan hasil berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan yang lain. Ini menunjukkan pemberian PSK dosis 3 mg/kg BB menyebabkan nekrosis 15,56% pada sel epitel tubuli yang secara morfologi dicirikan oleh Robbins *et al.*, (1995) dengan adanya destruksi inti sel yang meliputi piknosis (pengerutan inti), karyoreksi (pecahnya inti) dan kariolisis (penghancuran inti).

Pada kelompok P3 dengan pemberian PSK dosis 6 mg/kg BB menunjukkan adanya sel tubuli normal, pembengkakan sel dan nekrosis. Jumlah sel tubuli normal pada kelompok ini berbeda signifikan dengan kelompok P0, P1 dan P2. Sel tubuli yang mengalami pembengkakan sel menunjukkan berbeda tidak signifikan dengan P1 dan berbeda signifikan dengan kelompok P0 dan P2. Penyebab adanya pembengkakan sel pada kelompok ini sama dengan yang terjadi pada kelompok P1. Jumlah sel epitel tubuli yang mengalami nekrosis berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan yang lain. Pada kelompok P3 yang diberi PSK dosis 6 mg/kg BB menunjukkan adanya perubahan secara histologi berupa

pembengkakan sel 15,32% dan nekrosis 21,18%. Tingginya persentase sel tubuli yang mengalami pembengkakan dan nekrosis sel berhubungan dengan makroskopis ginjal yaitu berat organ ginjal. Rata-rata berat organ ginjal pada kelompok P3 paling kecil dibanding dengan kelompok perlakuan yang lain yaitu 0,14 gram.

Jumlah nekrosis pada tubulus semakin bertambah dengan bertambahnya pemberian dosis PSK pada kelompok P1, P2 dan P3. Hasil analisis uji *Duncan* antar kelompok perlakuan menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Meningkatnya jumlah nekrosis pada setiap kelompok perlakuan didukung dengan data hasil pengamatan makroskopis berupa semakin kecil organ ginjal. Sedangkan pada pengamatan makroskopis ginjal yang meliputi warna, permukaan dan konsistensi tidak menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap kelompok perlakuan. Menurut Donatus (2001) lama dan intensitas paparan bahan toksik dapat mempengaruhi wujud dan ketoksikan bahan tertentu terhadap suatu organ dan jaringan.

Ginjal mempunyai peran dalam mengeliminasi zat-zat dari darah terutama produk akhir metabolisme seperti urea, kreatinin, asam urat, dan garam-garam asam urat, yang direabsorpsi sedikit dan diekskresikan dalam jumlah besar ke dalam urin (Donatus, 2001).

Pada pengukuran kadar kreatinin serum mencit menunjukkan kelompok P0 tidak berbeda signifikan dengan kelompok P1 dan P2 tetapi berbeda signifikan dengan P3. Ini menunjukkan bahwasannya kadar kreatinin pada P0, P1 dan P2

dalam keadaan normal menurut Hall (2007) kadar normal kreatinin serum pada mencit adalah 0,2-0,9 mg/dL.

Kadar kreatinin pada kelompok P1 yang diberi PSK dosis 1,5 mg/kg BB menunjukkan kadar kreatinin yang normal walaupun pengamatan secara histologi menunjukkan adanya kerusakan sel tubuli berupa pembengkakan sel dan nekrosis tetapi kerusakan yang berupa pembengkakan sel bersifat reversibel. Sehingga dosis ini dapat digunakan sebagai dosis terapi. Walaupun pada pemberian dosis PSK sebesar 3 mg/kg BB menunjukkan nilai kreatinin yang normal tapi persentase kerusakan pada sel epitel tubulinya melebihi 25%. Sehingga kurang tepat untuk dijadikan dosis terapi.

Hasil rerata kadar kreatinin pada kelompok P3 menunjukkan nilai diatas normal yaitu 1,06 mg/dL. Hal ini dapat dikarenakan mengecilnya organ dan adanya kerusakan pada sel tubuli ginjal berupa nekrosis dan pembengkakan sel yang persentasenya hampir 36,5 %. Adapun penyebab lain menurut Underwood (2000) yaitu adanya peningkatan dalam perombakan metabolisme otot yang berlebihan, kerusakan pada ginjal yang sudah berat, perdarahan, renjatan, trauma, sepsis atau tumor. Donatus (2001) menyatakan lama dan intensitas paparan bahan toksik juga dapat mempengaruhi wujud dan ketoksikan suatu bahan tertentu. Berbagai respons biokimia tersebut, yang pada awalnya mungkin bersifat adaptif, bila berkelanjutan akan menuju ke berbagai perubahan atau gangguan biokimia yang patologis.